

JPA No.131578/1990

Title of the Invention:

Carriers for Immobilization of Microorganisms

Claims:

1. A carrier for immobilization of microorganisms, which comprises a sheet form product or its three-dimensional structure composed of inorganic fiber as main component.

2. A carrier for immobilization of microorganisms according to Claim 1, wherein the three-dimensional structure is of honeycomb structure.

3. A carrier for immobilization of microorganisms according to Claim 1, wherein the sheet form product or its three-dimensional structure is formed by burning or sintering.

## ⑫ 公開特許公報(A) 平2-131578

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>C 12 N 11/14  
A 01 K 63/04  
C 02 F 3/00

識別記号

庁内整理番号

7329-4B  
A 7110-2B  
C 7308-4D

⑭ 公開 平成2年(1990)5月21日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全4頁)

⑮ 発明の名称 微生物固定化担体

⑯ 特 願 昭63-283713

⑰ 出 願 昭63(1988)11月11日

⑱ 発 明 者 上 條 正 泰 静岡県富士市富士見台3丁目7-16

⑲ 発 明 者 鈴木 伊 佐 男 静岡県富士市新橋町4-1

⑳ 出 願 人 株式会社興人 東京都港区新橋1丁目1番1号

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

微生物固定化担体

## 2. 特許請求の範囲

1) 無機繊維を主成分とするシート状物又はその立体構造物であることを特徴とする微生物固定化担体。

2) 請求項1の立体構造物がハニカム構造物であることを特徴とする微生物固定化担体。

3) 請求項1のシート状物又はその立体構造物が焼成又は焼結されたものであることを特徴とする微生物固定化担体。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は無機繊維を主成分とする微生物固定化担体に関するものであり、更に詳しくは無機質シート状物又はその立体構造物が有する気孔に微生物を固定化し、固定化した微生物により養魚水槽等の水の浄化、下水道、上水道等の水処理等に用いられる微生物固定化担体に関するものである。

(従来の技術)

近年、鑑賞魚は金魚の様な昔から普及している淡水性の飼育の簡単なものから、より飼育が難しい高級な海水魚を飼育して楽しむ方向に移行しており、又、海水魚の養殖も海中ではなく陸上にいけすや水槽を作って行なわれる試みがなされており、いわゆる栽培漁業の時代に入りつつある。

これらの漁業方法においては、養魚水の浄化は自然には行なわれ難く、人為的に行なう必要があり、微生物を利用した浄化方法が提案されている。

微生物を担持するための担体(基材)としては塩化ビニル樹脂製ハニカム、セラミック多孔質粒状物、天然多孔石粒状物、天然石粒状物等が使用されている。

(発明が解決しようとする課題)

しかしながら、これらの担体は一長一短があり最良のものとは言えない状態であった。

即ち、塩ビハニカムは安価で製法も簡単ではあるが、塩ビフィルムの表面は平滑であり比表面積が小さく、又、微生物の生息に必要とされる適当な

大きさの孔がなく、更に塩ビ中に含まれる可塑剤が微生物に悪影響を与え微生物の安定的増殖維持には不適当であった。

また、セラミック多孔質粒状物、天然多孔石粒状物、天然石粒状物はある程度効果はあるものの、かなりの容積を必要とし、又、洗浄等を行なった、交換したりするには手間がかかる等の欠点を有していた。これらの問題点は養魚水以外の水の浄化、或は、下水道、上水道等の水処理等にも該当する問題であった。

本発明はかかる従来技術の欠点を解消し、微生物の安定的増殖維持に適し、且つ、小容積で済み、洗浄、交換等の作業性が良い微生物固定化担体を提供する事を目的とする。

(課題を解決するための手段)

本発明は無機繊維を主成分とするシート状物又はその立体構造物であることを特徴とする微生物固定化担体であり、シート状物又はその立体構造物は強度の点で焼成又は焼結されたものがより好ましく、形状としては微生物の固定化面積、水と

などが挙げられる。

気孔の大きさは平均気孔径  $1 \sim 100 \mu\text{m}$  が適当であり、比表面積としては  $0.5 \text{ m}^2/\text{g}$  以上あるものが特に望ましい。

また、シート形成のためには前記の無機繊維と無機粉末の重量比を  $100/0 \sim 20/80$  程度の範囲にするのが好ましい。無機繊維がこれより少ないとシートとしての強度が不十分である。

また、シート状物の強度を上げるために無機質結合成分等の耐久性結合成分を用いても良く、本発明に用いられる無機質結合成分としては、例えば山皮群(セピオライト、アタパルジャイト、バリゴルスカイトなど)、水和膨潤性ベントナイト群(ソジウムベントナイト、ソジウムモンモリロナイトなど)、水和膨潤性雲母群(ソジウムテトラシリクマイカ、ソジウム又はリチウムテニオライト、ソジウム又はリチウムヘクトライトなど)等が挙げられる。尚、耐久性結合成分として熱可塑性樹脂、熱架橋性樹脂等の有機質結合成分も用いられる。

の接触面積の点でハニカム構造がより好ましい。

本発明に用いられる無機繊維としては、例えばアルミナ繊維、シリカ繊維、アルミナシリカ繊維、ガラス繊維、ロックウール、マイクロガラスファイバー等が挙げられる。無機繊維の繊維径としては  $1 \sim 15 \mu\text{m}$ 、繊維長は  $100 \mu\text{m}$  程度以上のものが好適である。

本発明においては気孔の大きさを調整するために必要に応じて無機粉末を併用しても良く、用いられる無機粉末としては、例えばケイ石、ケイ砂、ケイソウ土、カオリン、ハロイサイト、モンモリロナイト、ベントナイト、ゼオライト、酸性白土、陶石、ろう石、長石、石灰石、ケイ灰石、滑石、木節粘土、蛙目粘土、ボーキサイト、ダイアスポア、ギブサイト、粘土状雲母(セリサイト、イライト)、パーミキュライト、石膏、ドロマイト、マグネサイト、水酸化アルミニウム、水酸化マグネシウム、トベルモナイト、ゾノトライト、アルミナシリカ、マグネシア、カルシア、ジルコニア、酸化チタン、スピネル、コージライト、ムライト

これらの耐久性結合成分は前記の無機繊維及び無機粉末の合計  $100$  重量部に対して  $50$  重量部程度までが適当であり、 $50$  重量部を超えると無機質の表面の大部分が結合成分により覆われて微生物が固定化しにくくなるため好ましくない。

更に、本発明においてはセルロース繊維群(木材、コットン、ワラ、麻、こうぞ、三また、ぼろなどからつくられるパルプ)、有機合成繊維群(ポリエチレン、ポリプロピレン、ビニロン、ナイロン、ポリエステル、ポリアクリル繊維など)及び有機再生繊維群(レーヨン、ポリノジック繊維など)などの有機質繊維、更には水溶性尿素樹脂、メラミン樹脂、カチオン化澱粉、酸化澱粉、CMC、ポリアミドポリアミンエピクロビトリン樹脂、水溶性アクリル樹脂等のWET紙力増強剤、ロジン系、石油系、オレイン酸系サイズ剤、高分子樹脂エマルジョン、ラテックス、或はアニオン系、カチオン系高分子凝集剤、製紙用粘剤、硫酸バンド等の製紙用薬劑などを本発明の目的を損わない範囲内で適宜選択して用いても良い。

本発明におけるシート状物の成型方法としては例えば通常の湿式抄紙法が適用できる。

本発明において立体構造物としては特に限定されず、内部空間を含むように折り曲げたものが採用できるが、シート状物をコルゲート加工により片段品に成形したり、更に成巻加工あるいは積層加工してハニカム構造等の立体構造物にすると、単位体積当りの固定化面積、接触面積が増えるため、微生物固定化担体を小型化できるのでより好ましく、中でもハニカム構造が特に好適である。

更にまた、前記のシート状物或は立体構造物をアルミナゾル、シリカゾル、ジルコニアゾル等の無機質結合成分等の耐久性結合成分により更に補強結合したり、800℃以上の温度で焼成・焼結して陶化させる等により耐水性を更にもたせた方がより好ましく、中でも焼成・焼結処理が好適である。耐久性結合成分の量は前記のシート化の際に使用したものと併せて、無機繊維及び無機粉末の合計100重量部に対して50重量部程度以下が前記同様の理由により適当である。

水中に溶存するアンモニア性窒素を浄化する事が可能となる。

かくして養魚にとって有害なアンモニア性窒素を比較的無害な亜硝酸性窒素乃至は硝酸性窒素に変換する事により養魚を好適に行なう事ができる。

(発明の効果)

本発明の微生物固定化担体は従来のセラミック多孔質粒状物、天然多孔石粒状物、天然石粒状物に比べて微生物が固定化される気孔が多いため微生物の増殖担持により適したものである。

また、微生物が固定化される気孔が多い分、小容積で済み、洗浄、交換等の作業性の優れたものである。

(実施例)

次に実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。  
実施例1

セラミックファイバー(新日鉄化学製エスファイバーSC1260バルク、平均繊維径2.8μ)のショットを除去したもの100重量部、山皮(武田薬品製エードプラス)40重量部、針葉樹

以上の様にして得られる本発明の微生物固定化担体は表面に無数の気孔を有しており、微生物を増殖担持するには最適の構造となる。

本発明の微生物固定化担体を用いて養魚水槽等の水の浄化、下水道、上水道等の水処理等を行うには、各々の目的に適した微生物を適宜選択し、微生物を担持、増殖させれば良い。

例えば、水中に溶存するアンモニア性窒素を浄化するには硝化菌等が用いられる。硝化菌としてはその代表的なものはニトロソモナス菌(Nitrosomonas菌)、ニトロソバクター菌(Nitrobacter菌)などがあり、ニトロソモナス菌はアンモニア性窒素を亜硝酸性窒素に変換し、ニトロソバクター菌は亜硝酸性窒素を硝酸性窒素に変換する働きがある。

具体的には、例えばアンモニア性窒素を含む養魚用水槽中の水を循環接触させながら硝化菌の種菌を本発明の固定化担体に接種し、その必要に応じて曝気装置を設置し酸素を供給する事により、固定化担体の気孔中には硝化菌が増殖担持され、

クラフトパルプ(NBK P)10重量部及びポリアクリル酸エステル系樹脂エマルジョン5重量部を水分散体となし、更に製紙用薬剤である硫酸バンド5重量部及びポリアクリルアミド系高分子凝集剤を0.05重量部添加した後、湿式抄紙法により厚み0.2mmのセラミックペーパーを抄造した。

このセラミックペーパーを用いて山の高さ5mmでコルゲート加工して片段成形物を作った。

次いで、これを成巻加工し直径8cm×長さ10cmの円筒状ハニカム体とした(見掛け容積約0.5L)。

更にシリカゾルを約20重量%含浸した後、500℃から1100℃まで徐々に昇温し、1100℃にて5時間焼結し、セラミック質にした。このセラミックハニカム構造体の表面を電子顕微鏡で見ると無数の気孔が見られ、水銀圧入法により平均気孔径を測定すると約8μmであり、この時の比表面積は4m<sup>2</sup>/gであった。

このハニカム構造体を内径8cmのカラムに詰めカラムに空気を供給する曝気装置をセットして25

0L水槽の海水浄化装置とし、最初 200Lの人工海水に塩化アンモニウムを溶解しアンモニア性窒素分を約10PPMとした。

硝化菌を接種せずに曝気しながらポンプによりカラム中に海水を通し水槽との間で循環させ水温20℃でコントロールしながら毎日溶存アンモニア性窒素濃度を測定追跡した所、2週間目で約8PPMであった。

この時点で、上記のハニカム構造体にニトロソモナス菌及びニトロバクター菌の種菌を接種し、引き続き測定追跡した所、約2日間後で1PPM以下になった。

次いで、塩化アンモニウム水溶液を添加してアンモニア性窒素濃度を再び10PPMにした所、1日後に1PPM以下に下がった。以後、塩化アンモニウム水溶液の添加と1日後の測定を5日間くり返して見たが同様の結果であった。

そこで約1kg/尾の黒鯛を3尾水槽中に入れて飼育しながら、時々人工海水を追加投入して水量を一定にし、溶存アンモニア性窒素濃度を追跡測定

して行ったが6ヶ月間飼育しても1PPM以上にはならず、黒鯛も何ら問題なく飼育できた。

#### 比較例1

微生物の担持体として天然石粒状物の平均直径約5mmのものと1mmのものを重量比1:1に混合して見掛け容積20L分を内径8cmのカラムに詰めた。見掛け容積20L分を内径8cmのカラムに詰めるには4mのカラム長が必要であった。

次いで、カラムに空気を供給する曝気装置をセットして250L水槽の海水浄化装置とし、最初 200Lの人工海水に塩化アンモニウムを溶解しアンモニア性窒素分を約10PPMとした。

硝化菌を接種せずに曝気しながらポンプによりカラム中に海水を通し水槽との間で循環させ水温20℃でコントロールしながら毎日溶存アンモニア性窒素濃度を測定追跡した所2週間目で約9PPMであった。

この時点で、上記の天然石粒状物にニトロソモナス菌及びニトロバクター菌の種菌を接種し、引き続き測定追跡した所、4日目から溶存アンモニア性

窒素濃度が落ち始め、接種1週間後で1PPM以下となった。

次いで、塩化アンモニウム水溶液を添加してアンモニア性窒素濃度を再び10PPMにした所、3日後に1PPM以下まで下がった。

以上の様に、カラムの大きさを実施例1に比べ著しく大きくしたが、それでも実施例1の性能には及ばない程度であった。

特許出願人 株式会社 興人

(54) MICROORGANISM IMMobilized CARRIER  
 (11) 2-131578 (A) (43) 21.5.1990 (19) JP  
 (21) Appl. No. 63-283713 (22) 11.11.1988  
 (71) KOHJIN CO LTD (72) MASAYASU KAMIJO(1)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C12N11/14, A01K63/04, C02F3/00

**PURPOSE:** To obtain the title carrier suitable for stable multiplication of bearing of microorganism, having small volume and excellent workability of cleaning, exchange, etc., by molding a mixture of inorganic fibers and inorganic powder into a sheetlike state.

**CONSTITUTION:** 100 pts.wt. mixture of 100-20wt.% inorganic fibers (e.g., alumina fibers) having 1-15 $\mu$ m fiber diameter and  $\geq$ 100 $\mu$ m fiber length and 0-80wt.% inorganic powder (e.g., silica rock) having 1-100 $\mu$ m average pore diameter and  $\geq$ 0.5m<sup>2</sup>/g specific surface area is blended with  $\leq$ 50 pts.wt. durable binder component (e.g., sepiolite) and water to give a slurry, which is made into paper in a set state and molded into a sheetlike shape or the sheetlike material is bent so as to contain inner space and shaped into a three-dimensional structure such as honeycomb structure and calcined and sintered at  $\geq$ 800°C.

#### (54) INTRACELLULAR POTASSIUM ION ADJUSTING FACTOR AND GENE THEREOF

(11) 2-131579 (A) (43) 21.5.1990 (19) JP  
 (21) Appl. No. 63-109515 (22) 2.5.1988  
 (71) MITSUBISHI KASEI CORP (72) SHIGETADA NAKANISHI(1)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C12N15/00, C07H21/04, C07K13/00//C12P21/02

**PURPOSE:** To provide function of promoting outflow of K<sup>+</sup> in cell by cloning a specific protein.

**CONSTITUTION:** Whole RNA separated from human or rat kidney tissue is purified, subjected to oligo(dT)cellulose chromatography and poly(A)-containing RNA containing mRNA of K<sup>+</sup> adjusting factor is isolated to give mRNA group. Then the mRNA grown is hybridized with primer DNA and treated with a reverse transcriptase and DNA polymerase I to synthesize duplex cDNA, which is treated with EcoRI methylase. The cDNA chain is protected from scission of EcoRI and EcoRI linker is added to both ends of the cDNA chain. Then the cDNA chain is inserted into RcoRI scission site at the downstream of SP6 promoter of plasmid vector to give a recombinant phage DNA group or a recombinant plasmid DAA group, which is transduced to a host and multiplied to give an intercellular K<sup>+</sup> adjusting factor shown by amino acid sequence of the formula.

1 Met Ala Leu Ser Asn Ser Thr Thr Val Leu Pro Phe Leu Ala Ser 15  
 16 Leu Trp Gln Glu Thr Asp Glu Pro Gly Gly Asn Met Ser Ala Asp 30  
 31 Ala Arg Arg Ser Gln Leu Arg Asp Asp Ser Lys Leu Glu Ala 45  
 46 Leu Tyr Ile Leu Met Val Leu Gly Phe Phe Gly Phe Phe Thr Leu 60  
 61 Gly Ile Met Leu Ser Tyr Ile Arg Ser Lys Lys Leu Glu His Ser 75  
 76 His Asp Pro Phe Asn Val Tyr Ile Glu Ser Asp Ala Trp Gln Glu 90  
 91 Lys Gly Lys Ala Leu Phe Gln Ala Arg Val Leu Glu Ser Phe Arg 105  
 106 Ala Cys Tyr Val Ile Glu Asn Gln Ala Ala Val Glu Gln Pro Ala 120  
 121 Thr His Leu Pro Glu Leu Lys Pro Leu Ser 135

#### (54) PREPRO TYPE ALKALI PROTEASE GENE

(11) 2-131580 (A) (43) 21.5.1990 (19) JP  
 (21) Appl. No. 63-280370 (22) 8.11.1988 (33) JP (31) 88p.170018 (32) 9.7.1988  
 (71) SHOKUHIN SANGYO KOUSO KINOU HENKAN GIJUTSU KENKYU KUMIAI  
 (72) YUTAKA ISHIDA(10)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C12N15/57//C12N15/57, C12R1/69

**PURPOSE:** To efficiently obtain alkali protease in a short period by culturing a fungus belonging to the genus *Aspergillus*.

**CONSTITUTION:** A fungus [e.g., *Aspergillus oryzae* (ATCC 20386)] belonging to the genus *Aspergillus* is cultured to give cells, which are ground to give mRNA. The mRNA is concentrated to give alkali protease mRNA. cDNA obtained from the mRNA is integrated with vector DNA to give recombinant plasmid, which is treated with a restriction enzyme at 30-40°C for 1-24 hours and the prepared solution of reaction completion is subjected to agarose gel electrophoresis to give prepro type alkali protease gene prescribed by restriction endonuclease cleavage map shown by the formula (E is EcoRI; A is Afl II; K is KpnI; X is XmnI; S is Sall; B is Bgl II; B is Hind III).

